

# ANALISIS *FINGERPRINT* DAUN GEDI HIJAU (*Abelmoschus manihot* L) UNTUK MEMPREDIKSI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN KOMBINASI SPEKTROSKOPI IR DENGAN *PARTIAL* *LEAST SQUARE REGRESSION*

Marino Novri Warongan<sup>1)</sup>, Sri Sudewi<sup>1)</sup>, Adithya Yudistira<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

## ABSTRACT

*The study aims to determine the antioxidant activity, infrared spectra and correlation between spectral data and antioxidant activity of green gedi leaves. Method of determining prediction of antioxidant activity through fingerprint analysis using combination of IR spectroscopy and Chemometric Partial Least Square Regression (PLSR). DPPH method is used to prevent free radical and free-radical yield of free radical or concentration 150 ppm Bitung A sample  $91.392 \pm 1.125$ , Bitung B sample  $88.493 \pm 1.515$  dan Bitung C sample  $91.663 \pm 1.184$ , Manado A sample  $89.464 \pm 1.642$ , Manado B sample  $90.096 \pm 3.510$ , and Manado C sample  $89.477 \pm 0.850$ , and in the Kotamobagu sample A  $86.678 \pm 3.703$ , Kotamobagu sample B  $82.963 \pm 2.991$  and Kotamobagu sample C  $83.163 \pm 6.354$ . Gedi leaves from the city of Bitung, Manado, and Kotamobagu has a relatively similar spectrum. This combination involves the FTIR spectrum as the “x” variabel and the result data of the DPPH method as the “y” variabel. The prediction model can be used because it has error value ( standar error calibration (SEC = 0.0615), standard error of prediction (SEP = 0.0763)) and calibration value of 0.4181, and r validation of 0.2917.*

**Keywords:** Antioxidant, Green Gedi Leaves, FTIR Spectrophotometry, UV-VIS Spectrophotometry, Chemometric .

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, spektrum infra merah dan korelasi antara data spektrum dan aktivitas antioksidan daun gedi hijau. Metode penentuan prediksi aktivitas antioksidan melalui analisis *fingerprint* menggunakan kombinasi Spektroskopi IR dan Kemometrik *Partial Least Square Regression* (PLSR). Metode DPPH digunakan untuk menangkap radikal bebas dan hasil persen penangkal radikal bebas pada konsentrasi 150 ppm Sampel Bitung A  $91.392 \pm 1.125$ , Sampel Bitung B  $88.493 \pm 1.515$  dan Sampel Bitung C  $91.663 \pm 1.184$ , Sampel Manado A  $89.464 \pm 1.642$ , Sampel Manado B  $90.096 \pm 3.510$ , dan Sampel Manado C  $89.477 \pm 0.850$ , dan terakhir pada Sampel Kotamobagu A  $86.678 \pm 3.703$ , Sampel Kotamobagu B  $82.963 \pm 2.991$  dan Sampel Kotamobagu C  $83.163 \pm 6.354$ . Daun Gedi dari kota Bitung, Manado dan Kotamobagu ini memiliki spektrum yang relatif sama. Kombinasi ini melibatkan dari spektrum FTIR sebagai variabel x dan data hasil analisis metode DPPH sebagai variabel y. Model prediksi dapat digunakan karena memiliki nilai kesalahan (*standar error calibration* (SEC = 0.0615), *standard error of prediction* (SEP = 0.0763)) dan nilai *r* kalibrasi 0.4181, serta *r* validasi 0.2917.

**Kata Kunci :** Antioksidan, Daun Gedi Hijau, Spektrofotometri FTIR, Spektrofotometri UV-VIS, Kemometrik.

## PENDAHULUAN

Daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* L. Medik) merupakan salah satu tumbuhan dari suku Malvaceae umum ditanam dan dapat dimanfaatkan oleh masyarakat Manado sebagai bahan makanan yang dikenal sebagai Bubur Manado (Tinutuan), khas dari Manado, sedangkan untuk gedi merah secara tradisional dapat menyembuhkan beberapa penyakit (Mamahit dan Soekarno, 2010).

Hasil penelitian Jeni (1992) mengidentifikasi adanya flavonoid pada daun gedi yang diekstrak dengan pelarut etanol. Adapun Pine *et al* (2011) melaporkan bahwa daun gedi yang diekstrak dengan etanol 96% memiliki total flavonoid sebesar 41,56%. Senyawa flavonoid mempunyai berbagai fungsi penting untuk kesehatan salah satunya sebagai antioksidan (Hodgson *et al.*, 2006).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat digunakan untuk melindungi komponen biologi seperti lipid, protein, vitamin dan DNA melalui perlambatan kerusakan, ketengikan atau perubahan warna yang disebabkan oleh oksidasi (Jadhav *et al.*, 1996). Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur efektifitas antioksidan secara cepat, sederhana, dan DPPH telah digunakan secara luas untuk mengukur kemampuan suatu senyawa untuk menghambat radikal bebas atau sebagai pendonor hydrogen (Pine *et al.*, 2011).

Aplikasi kombinasi spektrum FTIR (*Fourier Transformed Infrared Spectrophotometer*) dengan metode kemometrik telah banyak digunakan di antaranya model klasifikasi asal daerah meniran (Dharmaraj *et al.*, 2006), metode deteksi pemalsuan atau diskriminasi bahan baku pangan atau obat herbal (Liu *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2007), prediksi kadar flavonoid total tempuyung (*sonchus arvensis* L.), serta prediksi kapasitas antioksidan total

pada minuman anggur (Versari *et al.*, 2010). Pemakaian yang luas tersebut karena teknik ini memberikan hasil yang cukup teliti dan akurat.

Dalam penelitian ini, metode kemometrik digunakan untuk menemukan korelasi statistika antara data spektrum dan informasi yang telah diketahui dari sampel, yang dalam hal ini berupa Aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dari setiap sampel diukur dengan menggunakan metode rujukan yang diakui, yaitu metode DPPH. Spektrum FTIR dari sampel yang telah diketahui aktivitas antioksidannya tersebut lalu digunakan untuk membentuk suatu model kalibrasi multivariat dengan metode statistika yaitu regresi kuadrat terkecil parsial (partial least squareregression, PLSR). Kebaikan model kalibrasi prediksi aktivitas antioksidan yang terbentuk di evaluasi menggunakan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) kalibrasi maupun validasi, SEC (*Standar Error of Calibration*), dan SEP (*Standard Error of Prediction*).

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Alat

Spektrofotometer FTIR (Shimadzu 8400 FTIR), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu 00780), Komputer pengolah data, Alat-alat gelas, Vortex dan Rotary Evaporator.

### Bahan

Daun gedi hijau dari 3 tempat tumbuh yang berbeda yaitu Kota Bitung (sampel A), Kota Manado (sampel B), dan Kota Kotamobagu (sampel C). Etanol teknis 96%, KBr, 2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan Metanol (Pa).

### Cara Kerja

#### Pengambilan Sampel

Sampel daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik.) diambil dari Kota Bitung, Kota Manado dan Kota

Kotamobagu. Selanjutnya setiap sampel daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* L.) dibuat simplisia. Simplisia dibagi menjadi 3 kelompok dan setiap kelompok ini kemudian diukur aktivitas antioksidan dan spektrum inframerah tertransformasi Fourier sehingga dari 3 sampel daun Gedi Hijau diperoleh 9 pasang data.

### Ekstraksi

Sebanyak 100 g simplisia dimasukkan ke dalam maserator 500 mL dan kemudian ditambahkan etanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi selama 24 jam dengan beberapa kali pengocokan. Ekstrak hasil maserasi kemudian diuapkan dengan rotary evaporator hingga terbentuk ekstrak kental.

### Pengujian Aktivitas Antioksidan Sebagai Penangkal Radikal DPPH

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antioksidan sebagai penangkal radikal bebas menurut Chandini *et al* (2008). Sebanyak 1 mL ekstrak daun gedi hijau dengan konsentrasi 150 µg/mL ditambah dengan 2 mL larutan DPPH dalam metanol 0,08 mM. Campuran tersebut kemudian divorteks dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar dalam keadaan gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm dan sebagai blanko digunakan metanol. Dan digunakan pembanding aktivitas penangkal radikal bebas dengan asam galat. Hasil presentase aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dihitung menurut persamaan :

$$\text{Aktivitas penangkal radikal bebas (\%)} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.Sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\%$$

### Pembuatan spektrum FTIR

Sebanyak 0.5 mg serbuk daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik.) dicampurkan dengan 0.025 mg KBr, dihomogenisasi. Pengukuran spektrum FTIR dilakukan pada daerah IR tengah (4000- 400 cm<sup>-1</sup>) dengan melibatkan pengontrol kerja berupa personal komputer yang dilengkapi perangkat lunak OPUS versi 4.2. Spektrum dihasilkan dengan kecepatan 32 detik dan resolusi 4 cm<sup>-1</sup>. Tampilan data spektrum akan menampilkan jumlah titik serapan kemudian diubah ke dalam format DPT (*data point table*) untuk keperluan pengolahan data. Data ini dapat dibuka dengan program *Microsoft Excel*. Selanjutnya data jumlah titik serapan yang ditampilkan (telah dihilangkan serapan CO<sub>2</sub>-nya pada 2399-2252 cm<sup>-1</sup>) diolah dengan program *The Unscrambler* versi 9.7 (CAMO, Norwegia) yang dijalankan dengan sistem operasi *Microsoft Windows XP Professional* (Rohaeti *et al*, 2011).

### Pembuatan model prediksi Aktivitas Antioksidan

Model kalibrasi multivariat dibuat dengan program *The Unscrambler* versi 9.7 menggunakan metode PLSR. Pembentukan model prediksi aktivitas antioksidan dilakukan oleh PLSR dengan melibatkan variabel *x* (hasil pengukuran FTIR) dan variabel *y* (data hasil analisis metode DPPH). Kalibrasi dan validasi model diolah dengan teknik validasi silang. Keakuratan model dapat dilihat pada nilai korelasi atau koefisien determinasi dan nilai kesalahan yang dihasilkan. Model dapat digunakan bila memiliki nilai kesalahan (*standar error calibration* (SEC), *standar error of cross validation* (SECV) atau *standard error of prediction* (SEP)) rendah dan nilai korelasi atau koefisien determinasinya tinggi (Rohaeti *et al*, 2011).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas Antioksidan Sebagai Penangkal Radikal DPPH

Tahapan analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH merupakan tahapan analisis yang cukup panjang. Tahapan ini diawali dengan ekstraksi oleh pelarut polar, pemekatan ekstrak, hingga pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis.

Berdasarkan metode analisis ini, aktivitas antioksidan yang terukur merupakan kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen kepada DPPH, sehingga DPPH yang telah berpasangan dengan atom hidrogen tersebut menghasilkan DPPH tereduksi (DPPH-H) (Hardiana, 2012). Serta adanya perubahan warna ungu menjadi kuning ketika terdapat senyawa antioksidan yang meredam radikal bebas DPPH (Dehpour *et al*, 2009).

Ketiga sampel Daun gedi hijau asal Bitung, Manado serta Kotamobagu memiliki aktivitas penangkal radikal bebas yang berbeda. Perbedaan aktivitas penangkal radikal bebas dari daun gedi hijau tersebut salah satunya menggambarkan adanya keragaman konstituen kimia tumbuhan sebagai akibat perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh. Suhu, sinar ultraviolet, hara, ketersediaan air, dan kadar CO<sub>2</sub> pada atmosfer adalah beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi metabolisme tumbuhan (Summanen, 1999)

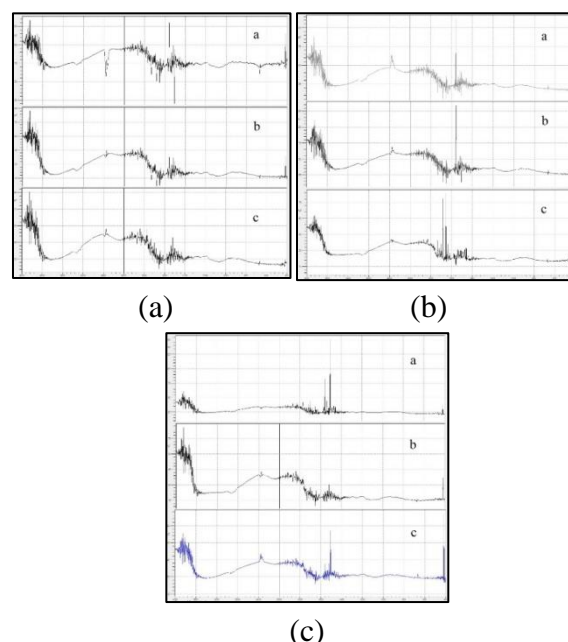
Tabel 1. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan daun gedi hijau

Sampel Daun Gedi	Aktivitas antioksidan ( %inhibisi ± sd)
Bitung A	91.392 ± 1.125
Bitung B	88.493 ± 1.515
Bitung C	91.663 ± 1.184
Manado A	89.464 ± 1.642
Manado B	90.096 ± 3.510
Manado C	89.477 ± 0.850
Kotamobagu A	86.678 ± 3.703

Kotamobagu B	82.963 ± 2.991
Kotamobagu C	83.163 ± 6.354

### Spektrum FTIR Daun Gedi Hijau

Analisis FTIR menjadi metode yang efektif dalam menentukan keberadaan berbagai gugus fungsional dari suatu senyawa atau molekul (Joshi, 2012). Identifikasi adanya gugus fungsi tersebut ditafsirkan berdasarkan area spektrum infra red atau *infra red chart*. Spektrum FT-IR daun gedi memberikan pola yang hampir mirip satu sama lain, hal ini menandakan bahwa senyawa kimia yang dikandung hampir sama.



Gambar 1. Spektra FT-IR Daun Gedi Hijau  
(a) Bitung, (b) Kotamobagu,  
(c) Manado

Berdasarkan pengujian dari ke 9 sampel menggunakan instrument FT-IR, diperoleh puncak absorbansi pada panjang gelombang 3580,05 cm<sup>-1</sup> -3649,76 cm<sup>-1</sup> menunjukkan gugus OH (alkohol), pada panjang gelombang 3392,69 cm<sup>-1</sup> – 3496.99 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya gugus NH (Amina Sekunder). Pada ikatan C=O (Aldehyd) terlihat di panjang gelombang 1720,43–1739,99 cm<sup>-1</sup>, C=O (keton) pada 1675-1725

$\text{cm}^{-1}$ , C=O (asam karboksilat) pada 1700-1725  $\text{cm}^{-1}$ . Adanya ikatan C=C (alkena) pada panjang gelombang 1620  $\text{cm}^{-1}$  – 1680  $\text{cm}^{-1}$ . Selain itu pada 1550-1570  $\text{cm}^{-1}$  terdapat –C–NO<sub>2</sub> (nitro). Serapan di daerah 1400-1500  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya C–C aromatik.

Penafsiran spektrum FTIR mengenai keberadaan suatu senyawa berdasarkan identifikasi gugus fungsi tersebut belum dapat dipastikan. Konfirmasi keberadaan senyawa seperti fenol dan flavonoid yang berperan terhadap kemampuan antioksidan daun gedi hijau dapat diketahui melalui analisis total fenol, total flavonoid yang dikorelasikan dengan aktivitas antioksidannya. Adanya korelasi dengan aktivitas antioksidan mengindikasikan senyawa fenol dan flavonoid tersebut.

### Pembuatan model prediksi Aktivitas Antioksidan

Kalibrasi multivariat dengan metode *Partial Least Square Regression* (PLS) secara otomatis akan memberikan informasi spektrum yang khusus dan relevan dengan suatu sifat kimia dari model kalibrasi pada bilangan gelombang tertentu (Van der Vort *et al.*, 1992). Pada analisis aktivitas antioksidan daun gedi hijau, variabel  $x$  merupakan nilai absorbans pada bilangan gelombang tertentu sedangkan variabel  $y$ -nya merupakan kadar aktivitas antioksidan hasil analisis DPPH. Model dapat digunakan bila memiliki nilai kesalahan (*standar error calibration*(SEC), *standar error of cross validation* (SECV) atau *standard error of prediction* (SEP)) rendah dan nilai korelasi atau koefisien

determinasinya tinggi (Miller and Miller, 2010).

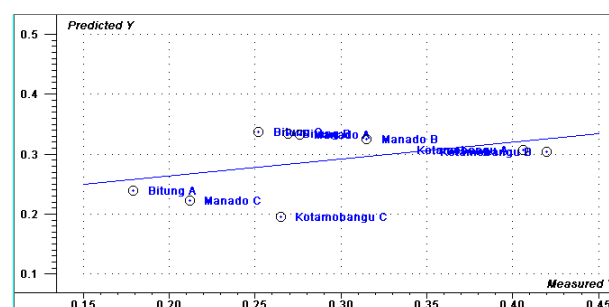
Keterangan:

— Validasi  
— Kalibrasi

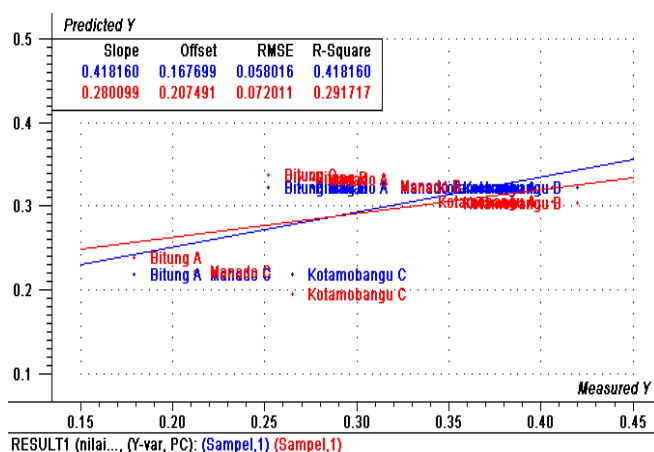
Gambar 2. Plot Regresi PLS daun gedi hijau

Hasil prediksi PLS menunjukkan nilai korelasi ( $r$ ) kalibrasi = 0.418, nilai korelasi ( $r$ ) validasi = 0.291 dan nilai SEP = 0.076 dan SEC = 0.061. Hal ini menunjukkan bahwa model kalibrasi dapat diterima dikarenakan memenuhi syarat dengan nilai koefisien determinasi yang tinggi dan galat yang rendah (Miller and Miller, 2010).

Kalibrasi dan validasi model diolah dengan metode validasi silang. Teknik sangat bermanfaat untuk menentukan jumlah komponen yang optimum dari jumlah contoh yang sedikit secara independen (Stchur *et al.*, 2002). Berdasarkan hasil validasi silang dalam menentukan keakuratan dan ketelitian model yang terbentuk dihasilkan nilai  $R^2 = 0,291$  dengan RMSEP = 0,072 seperti halnya pada plot validasi berikut.



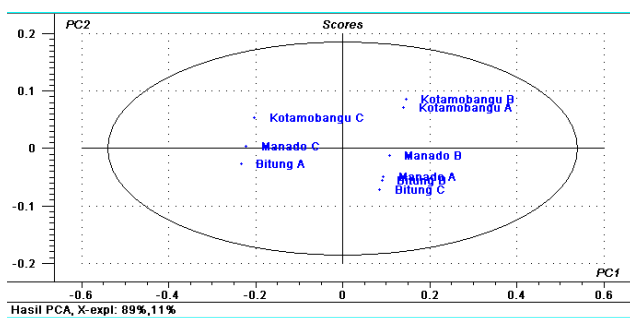
Gambar 3. Plot validasi prediksi aktivitas antioksidan daun gedi hijau



Plot regresi memperlihatkan mutu model regresi yang dihasilkan. Model data spektrum yang terbentuk merupakan model yang kurang baik karena menghasilkan titik yang tidak berdekatan satu sama lain, sehingga memperoleh nilai korelasi yang

rendah. Model yang baik akan menghasilkan titik-titik yang berdekatan sepanjang garis regresi dengan nilai slope mendekati 1 dengan nilai kalibrasi dan validasi yang saling berdekatan atau berimpitan (Naes et al. 2002).

Membedakan 3 daerah pengambilan sampel daun gedi hijau menjadi penting untuk dilakukan dalam rangka identifikasi daun gedi hijau. Analisis PCA merupakan salah satu teknik kemometrik yang dapat digunakan untuk mengekstrak informasi dari data yang didapatkan sehingga kita dapat melakukan pengenalan pola untuk mengelompokkan tanaman gedi hijau berdasarkan asal daerahnya. Analisis PCA dilakukan pada data yang telah didapatkan melalui hasil pengukuran. Pengukuran yang dilakukan pada sampel daun gedi hijau daerah Bitung, Manado dan Kotamobagu. Dengan menggunakan PCA data yang berukuran besar ini selanjutnya direduksi menjadi komponen utama atau *principle component* (PC) yang dapat mewakili struktur dan varians dalam data (Miller dan Miller, 2000).



Gambar 4. Data Scoreplot PC1 dan PC2

Hasil ini diperkuat dengan *score plot* antara PC 1 dan PC 2 pada gambar yang menunjukkan bahwa sampel daun gedi hijau dari beberapa daerah sudah dapat terpisah dan dikelompokkan dengan baik. Dapat di lihat Bitung B, Bitung C, Manado A dan Manado B berada di kuadran 1, Kotamobagu A dan B berada di Kuadran 2, Kotamobagu C dan Manado C berada di kuadran 3 sedangkan

Bitung A berada di kuadran 4. Dua komponen utama menunjukkan bahwa masing-masing daerah pengambilan sampel dikelompokkan ke dalam jarak yang berbeda satusama lain. Jarak antara sampel menunjukkan kesamaan antar sampel. Semakin jauh jarak, maka semakin sedikit kesamaan yang dimiliki antara sampel tersebut (Miller dan Miller, 2000).

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. Daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* L.) dari kota Bitung, Manado dan Kotamobagu memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik. Pada konsentrasi 150 ppm Sampel Bitung A  $91.392 \pm 1.125$ , Sampel Bitung B  $88.493 \pm 1.515$  dan Sampel Bitung C  $91.663 \pm 1.184$ , pada Sampel Manado A  $89.464 \pm 1.642$ , Sampel Manado B  $90.096 \pm 3.510$ , dan Sampel Manado C  $89.477 \pm 0.850$ , dan terakhir pada Sampel Kotamobagu A  $86.678 \pm 3.703$ , Sampel Kotamobagu B  $82.963 \pm 2.991$  dan Sampel Kotamobagu C  $83.163 \pm 6.354$ .
2. Analisis FT-IR daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* L. Medik.) yang tumbuh ditempat berbeda secara geografis, diperoleh hasil spektrum yang hampir sama.
3. Data spektrum daun gedi hijau dengan data yang diketahui (aktivitas radikal bebas) memiliki hubungan sehingga dapat dibuat pemodelan Aktivitas Antioksidan daun gedi hijau bisa digunakan dikarenakan memiliki nilai SEP = 0.076 dan SEC = 0.061 sedangkan nilai  $r$  kalibrasi = 0.418 dan  $r$  validasi = 0.291.

### Saran

Disarankan untuk dilakukan analisis lebih lanjut tentang pengukuran total fenol dan total

flavonoid yang dikorelasikan dengan aktivitas antioksidan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Chandini, S.K., Ganesan, P. dan Bhaskar, N. 2008. In vitro antioxidant activities of there selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry* **107**(2): 707-713.
- Chen, H., Bao, Y., He, Y., and Sun, D. W., 2007, Visible and Near Infrared Spectroscopy for Rapid Detection of Citric and Tartaric Acids in Orange Juice, *Journal Food Engineering*, 82 : 253-260.
- Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Fazel, N.S., and Mohammad, N.S., 2009. Antioxidant Activity of Methanol Extract of Ferula Assafoetida and Its Essensial Oil Composition. *Grasas Aciees*. **60**(4), 405-412.
- Dharmaraj, S., Jamaludin, A. M., Razak, H .M., Valliappan, R., Ahmad, N. A., and Ismail, Z. A., 2006, The Classification of *Phyllanthus niruri* Linn, According to Location by Infrared Spectroscopy, *Vibrational Spectroscopy*, 41 : 68-72.
- Hardiana, R. 2012. *Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol Dari Beberapa Jenis Tumbuhan Family Malvaceae*. [Skripsi]. Fakultas Mipa. Pontianak.
- Hodgson, J.M., and Kevin D.C., 2006, Review Dietary flavonoids:effects on endothelial function and blood pressure, *Journal Science Food Agriculture*, **86**:2492-2498.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D & Madhavi,D.L. 1996. Lipid Oxidantion in Biological and food systems. Dalam D.L.Madhavi, S.S. Deshpandeand D.K. Slunkhe (eds.) *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health, Drespectives*. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Jeni, T. 1992. *Pemeriksaan Kandungan Kimia Daun Gedi (Abelmoschus manihot L. Medik)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Joshi, R. K. 2012. *Chemical constituents and antibacterial property of the essential oil of the roots of Cyathocline purpurea*. Pub Med, J. Ethnopharmacol 2013 Jan 30;**145**(2):621-5.
- Liu, D., Li, Y. G., Xu, H., Sun, S. Q., and Wang, Z. T., 2008. Differentiation of The Root of Cultivated Ginseng, Mountain Cultivated Ginseng and Mountain Wild Ginseng using FT-IR and Two-Dimensional Correlation IR Spectroscopy. *Journal Molecular Structure*,883-884 : 228-235
- Mamahit L.P. & Soekarno,N.H., 2010. Satu senyawa organic yang diisolasi dari daun gedi (*Abemoschus manihot* L. Medik) Asal Sulawesi Utara. *Chemistry Program*, Vol. 3 No. 1, P. 45.
- Miller, J.N., and Miller J., C., 2000. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry Four Edition*. Pearson Education, Harlow.
- Miller, J.N., and Miller. J.C. 2010. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry Sixth Edition*. Pearson Education Limited, England.



- Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., and Davies, T., 2002. *A User Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*, NIR Publication, Chichester.
- Pine, A.T.D., Alam, G. dan Attamim, F. 2011. Standarisasi mutu ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dan uji efek antioksidan dengan metode DPPH. <http://www.pasca.unhas.ac.id/jurnal>. [21 Agustus 2012].
- Rohaeti, E., Heryanto, R., Rafi, M., Kurniasari, I., and Darusman, L. K. 2011. Prediksi kadar flavonoid total tempuyung (*sonchus arvensis* L.) Menggunakan kombinasi spektroskopi ir dengan regresi kuadrat terkecil parsial. *Jurnal Kimia* **5** (2) : 101-108.
- Stchur, P., Cleveland, D., Zhou, J., and Michel, R.G. 2002. A Review Of Recent Applications Of Near Infrared Spectroscopy, And The Characteristics Of A Novel Pbs CCD Array-Based Near Infrared Spectrometer. *Appl Spectrosc.* **37**:383-428
- Summanen, J. A. 1999. A Chemical and Ethnopharmacological Study on *Phyllanthus emblica* (Euphorbiaceae ). [Disertasi ]. Faculty of Science University of Helsinki, Helsinki.
- Van de Voort, F.R., Sedman, J., Emo, G., and Ismail, A.A. 1992. Rapid and Direct Iodine Value and Saponification Number Determination of Fats and Oils by Attenuated Total Reflectance/Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **69**(11):1118-1123.
- Versari, A., Parpinello, G. P., Scazzina, F., and Rio, D. D., 2010. Prediction of Total Antioxidant Capacity of Red Wine by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Food Control*, **21** : 786–789.